

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1951

THÈSE

POUR LE

Doctorat en Médecine

(Diplôme d'Etat)

PAR

Marcel-Joseph-Xavier DELTOUR

Né le 26 Septembre 1925,

à Villefranche-de-Rouergue (Aveyron)

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire de Lyon.

Présentée et soutenue publiquement le 11 Juillet 1951

L'INTRA-DERMO-RÉACTION
dans le diagnostic
de l'Amibiase

Étude expérimentale

PRESIDENT DE THESE : MONSIEUR LAVIER (Professeur)

IMPRIMERIE-PAPETERIE DE L'ÉCUREUIL
RODEZ

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1951

THÈSE

N°

POUR LE

Doctorat en Médecine

(Diplôme d'Etat)

PAR

Marcel-Joseph-Xavier DELTOUR

Né le 26 Septembre 1925,

à Villefranche-de-Rouergue (Aveyron)

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire de Lyon.

Présentée et soutenue publiquement le 11 Juillet 1951

L'INTRA-DERMO-RÉACTION
dans le diagnostic
de l'Amibiase

Étude expérimentale

PRESIDENT DE THESE : MONSIEUR LAVIER (Professeur)

IMPRIMERIE-PAPETERIE DE L'ÉCUREUIL
RODEZ

DOYENS HONORAIRES :

M. BALTHAZARD, BAUDOIN.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BALTHAZARD, BASSET, BAUDOIN, BRINDEAU, E. BRUMPT, CARNOT, CHEVASSU, CHIRAY, CLERC, DELBET, GUILLAIN, HARTMANN, LAIGNEL-LAVASTINE, LAUBRY, LEMIERRE, LHERMITE, LOEPER, MARION, MATHIEU, MULON, OMBREDANNE, ROUVIERE, SANNIE, SEZARY, SEBILEAU, TANON.

DOYEN :

LÉON BINET, *Membre de l'Institut*

ASSESSEUR :

JEAN VERNE

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	OLIVIER (E.)
Anatomie pathologique	LEROUX (R.)
Bactériologie	GASTINEL (P.)
Biologie médicale	VERNE (J.)
Cancérologie médicale et sociale	HUGUENIN (R.)
Carcinologie	OBERLING (C.)
Chimie médicale	POLONOVSKI (M.)
Cliniques chirurgicales (Hôtel-Dieu)	BROCQ (P.)
— — (Saint-Antoine)	CADENAT (F.)
— — (Salpêtrière)	MONDOR (H.)
— — (Cochin)	QUENU (J.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE d'AUBIGNE (R.)
Clinique de cardiologie	DONZELOT (E.)
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie	FEVRE (M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD (R.)
Clinique de la tuberculose	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT DUTAILLIS (D.)
Clinique de puériculture	DELONG (M.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT (H.)
Cliniques des maladies du sang	CHEVALLIER (P.)
Clinique des maladies du système nerveux ..	ALAJOUANINE (T.)
Clinique des maladies des enfants	DEBRE (R.)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET (F.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY (J.)
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO (P.)
Cliniques médicales (Hôtel-Dieu)	BENARD (H.)
— — (Bichat)	LAROCHE (G.)
— — (Cochin)	MOREAU
— — (Pitié)	LIAN (C.)
Clinique médicale d'hydro-climatologie thérapeutique	JUSTIN BESANÇON (L.)

Clinique médicale propédeutique	PASTEUR VALLERY-RADOT
Cliniques obstétricales (Tarnier)	LANTUEJOUL (P.)
— — (Baudeloque)	LEVY-SOLAL (E.)
— — (Port-Royal)	N...
Clinique ophtalmologique	VELTER (E.)
Clinique Oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE (F.)
Clinique physio-pathologique des problèmes alimentaires (chaire à titre personnel) ..	RICHET (C.)
Clinique psychiatrique infantile	HEUYER (C.)
Clinique rhumatologique	COSTE (F.)
Clinique stomatologique	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE (J.)
Clinique thérapeutique médicale	CHABROL (E.)
Clinique urologique	FEY (B.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie ...	BARIETY (M.)
Histologie	CHAMPY (C.)
Hygiène et clinique de la première enfance ..	CATHALA (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (C.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.)
Parasitologie et histoire naturelle médicale ..	GAILLARD (H.)
Pathologie chirurgicale	de GAUDART D'AL- LAINES (F.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	LEMAIRE (A.)
Pathologie médicale	N...
Pathologie et thérapeutique générales	de GENNES (L.)
Pharmacologie et matière médicale	HAZARD (R.)
Physiologie	BINET (L.)
Physique médicale	STROHL (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale	MOULONGUET (P.)
Thérapeutique	TURPIN (R.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

Anatomie	CORDIER (J.-C.) Pr. s. ch.
—	DEBEYRE (J.)
—	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) Pr. s. ch.
— —	BUSSER (F.)
Bactériologie	FASQUELLE (R.)
—	NEVOT (A.)
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)
Chimie médicale	ETTORI (J.) Pr. s. ch.
— —	JAYLE (M.-F.) Pr. s. ch.
— —	SCHAPIRA (G.)
Dermato-syphiligraphie	DEGOS (R.)
Histologie	BULLIARD (H.) Pr. s. ch.
—	COUJARD (R.)
—	DESCLAUX (P.)

Hydrologie	DEBRAY (C.)
Hygiène	BOYER (J.)
—	DEPARIS (M.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
—	GAULTIER (J.)
Neurochirurgie	N..
Neurologie	SEZE (S. de)
Obstétrique	GRASSET (J.)
—	LEPAGE (F.)
—	MAYER (M.)
—	MERGER (R.)
—	RAVINA (J.)
—	VARANGOT (J.)
Ophthalmologie	OFFRET (G.)
—	DESVIGNES (P.)
Oto-rhino-laryngologie	HALPHEN (E.) Pr. s. ch.
—	MADURO (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.)
Parasitologie coloniale	CHABAUD ff.
Pathologie chirurgicale	ABOULKER (P.)
—	BAUMANN (J.)
—	GOSSET (J.)
—	HUGUIER (J.)
—	LAURENCE (G.)
—	LEGER (L.)
—	OLIVIER (Cl.)
—	PADOVANI (P.)
—	POILLEUX (M.)
—	ROUX (M.)
—	RUDLER (J.-C.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie expérimentale	MERKLEN (P.)
Pathologie médicale	BERNARD (J.)
—	BOUDIN (G.)
—	CASTAIGNE (P.)
—	CONTE (M.)
—	DECOURT (J.)
—	DOMART (A.)
—	DREYFUS (Gilbert)
—	FAUVERT (R.)
—	HAMBURGER (J.)
—	KOURILSKY (R.)
—	LAMY (M.)
—	MAURIC (G.)
—	MILLIEZ (P.)
—	PERRAULT (M.)
—	RAMBERT (P.)
—	THIEFFRY (St)
—	TURIAF (J.)
Pédiatrie	LAPLANE (R.)
—	MARIE (J.)
Pharmacologie	LEVY (Mlle J.) Pr. s. ch.
—	CHEYMOL (J.-H.)

Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.-L.)
Physique médicale	DOGNON (A.) Pr. s. ch.
—	DJOURNO (A.)
—	GOUGEROT (L.)
Psychiâtrie	BARUK (H.)
Psychiâtrie infantile	MICHAUX (L.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	BROUET, chargé de l'enseignement
Urologie	KUSS (R.)

III. — PROFESSEURS HONORAIRES ET AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE pour le service des examens

MM. BASSET (A.) (Pathologie chirurgicale), BRINDEAU (A.), (Obstétrique), GATELLIER (J.) (Clinique Chirurgicale), LE LORIER (V.) (Obstétrique), VAUDESCAL (R.) (Obstétrique).

IV. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent

	MM.
Clinique chirurgicale	AMELINE (A.)
—	MENEGAUX (G.)
—	PATEL (J.)
—	SICARD (A.)
Clinique médicale	BOULIN (R.)
—	BROUET (G.)
—	CACHERA (R.)
—	DELARUE (A.)
—	GARCIN (J.)
—	HAGUENAU (M.)
—	LENEGRE (J.)
—	MARCHAL (G.)
—	MOUQUIN (M.)
—	SOULIE (E.)
Clinique obstétricale	DIGONNET (L.)
—	ECALLE (G.)
—	LACOMME (M.)
—	SUREAU (M.)
Clinique ophtalmologique	RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	AUBIN (A.)
Clinique urologique	COUVELAIRE (R.)
Secrétaire de la Faculté	MOREL (J.)
Secrétaire-Adjoint	CHARENTREUIL (Mlle G)
Bibliothécaire en Chef	Docteur HAHN (A.)
Bibliothécaires	Miles
—	DUMAITRE (P.)
—	GOICHON (A.-M.)
—	LAURENT (H.)
—	LE NOIR (G.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A la Mémoire de mon Père,

A la Mémoire de ma Mère,

A tous mes Parents,

A mes Amis.

*A notre Président de Thèse,
Monsieur le Professeur G. LAVIER,
Professeur de Pathologie Exotique
à la Faculté de Médecine de Paris,
Membre de l'Académie Nationale de Médecine,
Officier de la Légion d'Honneur,
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.
Hommages respectueux.*

A nos Juges.

Hommages respectueux.

*A Monsieur le Médecin-Lieutenant-Colonel MOLINIER,
Professeur Agrégé du Val-de-Grâce.*

*Il a toujours été pour nous un maître
dévoué et bienveillant.*

*Il nous a inspiré le sujet de cette thèse,
nous a aidé de ses suggestions et
de ses précieux conseils.*

*Nous lui exprimons ici toute notre pro-
fonde reconnaissance.*

*A Monsieur R. DESCHIENS,
Chef de Service à l'Institut Pasteur de Paris,
Officier de la Légion d'Honneur.*

*Il nous a accueilli avec bienveillance
dans son service, nous a fait pro-
fiter de sa longue expérience de
l'amibiase.*

*Nous l'assurons ici de notre vive
gratitude.*

*A Monsieur le Médecin Colonel JUDE,
du Laboratoire de Sérothérapie de l'Armée.*

*Il nous a permis de mener à bien cette
étude par sa compétence et par les
moyens mis à notre disposition.*

*Nous l'assurons ici de toute notre
reconnaissance.*

A Monsieur le Médecin-Général CHAVIALLE,

Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire.

A tous nos Maîtres, civils et militaires.

A tous mes camarades.

L'intra-dermo-réaction
dans le diagnostic
de l'Amibiase

INTRODUCTION

L'importance actuelle des examens de laboratoire a quelque peu modifié le rôle de l'examen clinique, qui n'est plus d'affirmer d'emblée un diagnostic, mais d'orienter vers les recherches biologiques nécessaires. A cette constatation, n'échappent ni les maladies infectieuses, ni les maladies parasitaires.

Dans ces affections en particulier, le laboratoire a pour but de mettre en évidence soit l'agent causal lui-même, soit les réactions spécifiques de l'organisme vis-à-vis du germe responsable.

Comme de nombreuses autres affections, l'amibiase est-elle également à l'origine de telles réactions et les méthodes de diagnostic biologique peuvent-elles lui être appliquées? Jusqu'à nos jours, en effet, son diagnostic repose uniquement :

1 — Sur les signes cliniques.

2 — Sur la découverte de parasites dans les selles. De nombreux travaux ont été faits cependant sur ces méthodes de diagnostic et particulièrement sur les réactions de déviation du complément. L'intra-dermo réaction aux extraits d'amibes a été également étudiée par quelques auteurs.

Nous nous proposons ici, après un très bref aperçu sur le diagnostic clinique et parasitologique de l'amibiase d'une part, sur les méthodes biologiques de diagnostic de l'amibiase d'autre part, de reprendre la méthode des intradermo réactions.

La mise en évidence d'une réaction spécifique par cette méthode serait, en effet, d'un intérêt considérable :

1) au point de vue simplicité de diagnostic,

2) au point de vue épidémiologique, à une heure où l'on doit se préoccuper du péril amibien dû à l'arrivée des coloniaux. Il est impossible de pratiquer chez tous des examens de selles en série; une intradermo réaction, par sa simplicité, constituerait une méthode de dépistage d'une incontestable supériorité.



CHAPITRE PREMIER

LES METHODES ACTUELLES DE DIAGNOSTIC

DE L'AMIBIASE ET LEUR INSUFFISANCE

I — AMIBIASE INTESTINALE

A — *Étape Clinique*

Le diagnostic de la dysenterie amibienne aiguë en milieu colonial est fréquent et généralement facile à affirmer, du fait de la répétition de syndromes aigus caractéristiques = syndrome diarrhéique important caractérisé par 10 à 15 selles liquides, glaireuses et sanguinolentes par jour, s'accompagnant d'épreintes et de ténésme. Dans ces cas, l'aspect « tricolore » des selles du malade signe à coup sûr une dysenterie amibienne. L'examen coprologique doit cependant être toujours pratiqué pour confirmer ce diagnostic. A ce stade de la maladie, il nous montre toujours de nombreuses amibes hématophages.

Les formes chroniques, aux colonies, sont également assez faciles à dépister, étant donné l'endémicité de l'affection. Par contre, chez tous ces malades ayant rejoint leurs foyers, ce diagnostic est déjà beaucoup plus difficile à établir; en effet, au bout d'un certain temps, vraisemblablement sous l'influence du climat et de conditions d'hygiène et d'alimentation différentes, le syndrome dysentérique se modifie sensiblement. Il se présente à nous sous des formes plus ou moins camouflées. Cependant, chez ces malades, tout syndrome dysentérique ou colitique même fruste doit faire penser à une parasitose intestinale et particulièrement à l'amibiase. Tous les troubles présentés peuvent cependant être dûs à une colite infectieuse, greffée secondairement sur une muqueuse lésée par une amibiase ancienne, et seule, jusqu'à présent la découverte de kystes ou d'amibes dysentériques dans les selles permet d'affirmer un diagnostic.

Mais, si, dans ce cas, on peut être amené à pratiquer un traitement d'épreuve, même en l'absence de tout critère parasitologique, il n'en est pas de même dans les cas d'amibiase autochtone, laquelle, malgré ses détracteurs s'est acquis droit de cité, et dont nous trouvons une monographie récente dans la thèse de Lapeyre. Le polymorphisme clinique de ces maladies est tel que très souvent le diagnostic est dû à un examen fortuit. Très fréquemment, en effet, ces malades se présentent aux consultations de gastro-entérologie sous les aspects les plus variés. Les uns accusent des troubles digestifs

(entérocélite avec constipation ou diarrhée, douleurs gastriques, dyspepsie de type vésiculaire), les autres pour des troubles de l'état général (asthénie (fatigabilité, amaigrissement) d'autres, enfin, pour des troubles tels que vertiges, palpitations, éblouissements, céphalées, troubles classés habituellement sous le terme général de dystonie neuro-végétative. Dans tous ces cas, seule la découverte de kystes d'*Entamoeba dysenteriae* et parfois aussi mais rarement d'amibes (type *Entamoeba histolytica*) par des examens de selles répétées permet de faire le diagnostic.

B — Etape coprologique

De nombreuses études ont été faites pour garder à l'examen de selles, qui exige par ailleurs de nombreuses précautions, toute sa haute valeur diagnostique.

Tout d'abord, on ne doit s'adresser qu'à un laboratoire spécialisé ayant à sa disposition un personnel très entraîné, la différenciation entre les formes non pathogènes d'amibes et *Entamoeba dysenteriae* étant parfois très délicate.

D'autre part, la répétition des examens sur des selles fraîchement émises peut être très rarement réalisée en dehors du milieu hospitalier. Pourtant, la fréquence de ces examens est rendue indispensable par la notion de « décharges amibiennes », notion soutenue dès 1936 au congrès de l'amibiase par R. Deschiens, et reprise depuis par de nombreux auteurs. KERSBAW rapporte qu'à Ceylan, 11% des malades ont exigé plus de 12 recherches coprologiques; MANSON-BAHR ajoute que 3 examens sont nettement insuffisants; SVENSON et LINDER sont encore plus exigeants et citent le chiffre de 10 examens comme insuffisants, et MOLINIER rapporte le cas d'un malade dont le diagnostic d'amibiase exigea 14 examens coprologiques successifs. De nombreux procédés sont employés pour rendre réalisable sans trop d'inconvénients la répétition de ces examens. Dès 1922, R. DESCHIENS a préconisé l'examen de selles pendant 8 jours consécutifs et dès 1926, ce même auteur a résolu la difficulté inhérente à la multiplication de ces examens. Le procédé de choix consiste à recueillir chaque jour dans un tube spécial, un fragment de selle dans une solution de formol à 5%. Le malade peut même, à la rigueur, mettre le prélèvement de ses selles dans le même bocal pendant huit jours, en ayant bien soin d'agiter le tout le façon à obtenir un mélange homogène. Le neuvième jour, le malade apporte au laboratoire le bocal contenant les 8 échantillons; ce jour-là, d'ailleurs, un examen peut être pratiqué sur une selle fraîchement émise. Après homogénéisation et concentration de ces selles, on pratique un examen très soigneux du culot de centrifugation.

Pour conclure, nous devons admettre :

1) que l'examen coprologique doit être pratiqué uniquement dans des laboratoires spécialisés.

1) qu'en raison chez un même malade de « décharges amibiennes » alternant avec des « périodes coprologiquement négatives » ces dernières pouvant atteindre à 6 à 8 jours, un examen négatif n'a

aucune valeur et doit être renouvelé après homogénéisation et réactivation si nécessaire.

3) qu'un seul examen positif suffit à affirmer le diagnostic de dysanterie amibienne.

C — Etape rectoscopique

Devant l'imperfection de l'examen coprologique qui pourtant reste encore le meilleur, on utilise la rectoscopie, procédé faisant partie actuellement de l'examen complet de tout amibien. Dans les cas chroniques, nous lui demanderons rarement des renseignements précis nous permettant de poser un diagnostic positif d'amibiase. En effet, on rencontre rarement dans ces formes la rectite ulcéro-congestive typique de l'amibiase aiguë, rectite décrite par BENS AUDE d'une part, par MOLINIER, BENS AUDE et TABUSSE d'autre part. Ce procédé, cependant, en nous permettant soit par des prélèvements in situ, soit par les biopsies d'éliminer des affections diverses (rectite ulcéro-hémorragique, ulcérations tuberculeuses, polypes, tumeurs malignes s'accompagnant généralement d'alternance de diarrhée et de constipation, de selles sanglantes) ne doit pas être négligé. MOLINIER, BENS AUDE et TABUSSE dans une communication au congrès de l'amibiase à Châtel-Guyon, en 1950, définissent exactement son rôle en attirant l'attention sur le fait que, en rectoscopie « la découverte d'un aspect anormal quelqu'il soit, oblige à rechercher sa cause ». La rectoscopie n'apporte donc pas dans tous les cas la preuve du diagnostic.

D — Etape Radiologique

Pour certains auteurs également, l'examen radiologique présente une très haute valeur pour le diagnostic des colites. SPEDER, dont tout le monde connaît les magnifiques travaux sur la radiologie du colon chez les amibiens, conclut ainsi au Congrès de l'amibiase en 1936 : « Seule, l'amibiase donne des lésions localisées et réparties sur les différents segments de l'intestin avec des zones intermédiaires normales ou beaucoup moins touchées par le processus pathologique. Cette disposition par foyers ou groupes de foyers est presque pathognomonique de l'amibiase. » Mais ce n'est pas là l'avis de tous les auteurs, et si la radiologie apporte une présomption, elle n'apporte pas une preuve.

E — Procédé d'Enrichissement

De même, dès 1925, l'avènement des cultures d'*Entamoeba histolytica* fit naître un nouvel espoir. SAINT JOHN, le premier, enseigna dans un but diagnostic les selles de 61 sujets de bonne santé apparente. Il trouva 6 cas d'infection par *Entamoeba histolytica* alors que par examen coprologique ordinaire, 5 cas sur les 6 examinés se montrèrent négatifs. Et SAINT JOHN concluait : « On peut dire que la multiplication des amibes en culture et leur rassemblement au fond du tube équivaldrait à une méthode d'examen avec possibilité de grande concentration. La valeur pratique de ce procédé repose sur

sur le diagnostic des cas douteux et le contrôle de traitements. » Par la suite, les statistiques se montrèrent moins éloquentes et, en 1936, H. BONNIN et COURDURIER concluent en disant que le pourcentage de cultures obtenues est à peine supérieur à celui des examens coprologiques après enrichissement, et ils ajoutent « qu'à l'heure actuelle, pour les cliniciens, la culture des amibes est un luxe ».

II — AMIBIASÉ EXTRA-INTESTINALE

Jusqu'à nos jours, pour les localisations extra-intestinales de l'amibiase, le diagnostic ne repose, pratiquement, que sur les signes cliniques.

La coexistence chez un même malade d'un gros foie douloureux, sensible à l'ébranlement en masse, d'une hypocynésie diaphragmatique droite à la radioscopie, d'une fièvre élevée avec altération très marquée de l'état général, d'une leucocytose avec polynucléose nous fait poser à tout coup le diagnostic d'hépatite amibienne. La plupart du temps cependant, cette atteinte hépatique s'accompagne d'une décharge amibienne.

Nous ne ferons que citer pour mémoire les autres localisations (pulmonaires, cérébrales, etc...) vraiment exceptionnelles et pour lesquelles le diagnostic ne peut être dû qu'à une découverte fortuite.

Enfin, le traitement d'épreuve, tout en amenant une sédation spectaculaire des troubles présentés, peut parfois nous orienter vers une amibiase.



CHAPITRE II

METHODES DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'AMIBIASE

L'imperfection ou les difficultés présentées par ces méthodes d'une part, l'avènement des cultures d'*Entamoeba histolytica* d'autre part incitèrent de nombreux auteurs à se tourner vers d'autres méthodes de laboratoire. Ils tentèrent d'appliquer à l'amibiase les méthodes de diagnostic biologique déjà employées dans les autres maladies parasitaires (syphilis, échinocoquose, Kala-Azar, etc...). Avant d'entreprendre l'étude de l'intra-dermo réaction, objet de ce travail, nous donnerons un bref aperçu des autres méthodes de diagnostic étudiées telles que :

- 1) les réactions de gélification du sérum d'amibien,
- 2) les réactions de floculation des kystes d'amibes par le sérum de malade,
- 3) les réactions de fixation ou de déviation du complément.

I) -- REACTIONS DE GELIFICATION DU SERUM D'AMIBIEN

Quoique n'étant pas la première en date, nous citerons cette méthode de diagnostic; elle nous retiendra en effet peu de temps, les auteurs concluant eux-mêmes à sa négative. En 1936, FABIANI et DENDALE, à Alger, étudient cette réaction au cours de l'amibiase. Ils pratiquent simultanément des réactions de lacto-gélification et de formol-gélification. Dans tous les cas, les réactions de formol-gélification se montrèrent négatives; de même les réactions de lacto-gélification se produisent toujours dans des délais normaux. Les auteurs font alors remarquer que dans tous les cas où ces réactions se montrent positives, le sérum appartient à un malade atteint d'une affection intercurrente (paludisme, syphilis, etc...) De ces expériences, ils concluent que la dysenterie amibienne est une infection localisée, donnant peu de réactions humorales, peu d'immunité et peu d'anticorps. Pour eux, les anticorps auraient une existence éphémère, ce qui serait prouvé par ailleurs, par les réactions de fixation du complément de Ch. CRAIG.

II) REACTIONS DE FLOCCULATION

A la suite de ZAUBITZER, COCA, VON SCHURCKRUAM et de nombreux autres auteurs, GREIFF en 1947 étudia aux Etats-Unis, les réactions d'agglutination des kystes d'amibes par le sérum

de malades atteints de dysenterie amibienne. A partir de cultures d'amibes, grâce à divers traitements, l'auteur obtient des kystes d'amibes qu'il employa à des dilutions diverses. Nous n'entrerons pas ici dans le détail de la technique employée. Jugeant sur plusieurs cas étudiés, l'auteur déclare qu'il ne paraît pas y avoir de relation entre les phénomènes d'agglutination obtenus d'une part, et l'infection avec *Entamoeba histolytica* d'autre part.

III) — REACTION DE DEVIATION DU COMPLEMENT

Plus importantes et plus antérieures aussi sont ces réactions. Dès 1911 SELLARDS étudie les réactions d'immunité dans la dysenterie amibienne. Il conclut que l'examen du sérum de dysentérique ne met pas en évidence la présence d'anticorps spécifiques.

En 1914, IZAR reprend ces expériences avec un antigène préparé à partir des mucosités intestinales d'un amibien, et conclut à l'existence de substances actives dans le sérum. Ces conclusions sont confirmées quelques années plus tard par celles de HAGE.

En 1922, SCALAS conclut également à l'existence d'anticorps spécifiques dans l'amibiase.

Il faut attendre cependant Ch. F. CRAIG, en 1926, pour voir les résultats de ces expériences publiés sur une grande échelle. Se servant comme antigène d'un extrait alcoolique de culture d'*Entamoeba histolytica* (nous rappelons ici que c'est seulement en 1924 que l'amibe dysentérique a pu être cultivée et que, par conséquent, cet auteur est le premier à avoir eu à sa disposition un antigène présentant quelques garanties) Ch. F. CRAIG expérimente sur de nombreux malades. Il démontre, avant tout, que l'extrait employé possède une propriété hémolytique et une propriété cytolytique, et ajoute que ces propriétés se révèlent uniquement dans l'alcool absolu et non dans l'eau salée. De plus, ces propriétés appartiennent en propre à l'amibe et ne sont retrouvées ni dans le liquide surnageant les cultures, ni dans les filtrats des cultures des bactéries accompagnant les cultures d'amibes. En outre, les amibes âgées ou dégénérées ne donnent également aucun résultat.

Dans ces réactions, l'auteur emploie la technique utilisée dans le Bordet-Wassermann et opère sur 300 malades.

Sur ces 300 malades, 225 furent examinés au point de vue parasitologique. Sur les 225 malades examinés, 26, soit 11,5% présentèrent une réaction positive. On retrouva des amibes chez 24 d'entr'eux. 199 présentèrent une réaction négative. On retrouva des amibes chez 2 d'entr'eux.

CRAIG étudia en même temps la relation de sa réaction avec celle de Bordet-Wassermann.

Sur 26 réactions + il y eut 1 Kahn +

Sur 199 réactions — il y eut $\left\{ \begin{array}{l} 7 \text{ B W } + \\ 10 \text{ Kahn } + + + \end{array} \right.$

De même sur 28 cas d'infection par *Entamoeba coli*, la réaction se montra positive deux fois seulement.

En 1929, nouveaux résultats.

623 malades examinés. Parmi eux :

67 donnent une réaction + + + + 61 ex. coprologiques +
556 donnent une réaction — 5 ex. coprologiques +

En 1930 :

689 malades examinés. Parmi eux :

84 (12%) réactions + + + + { 77 (92 %) ex. coprologique +
13 (8 %) ex. coprologique —
605 (88%) réactions — { 5 (0,8%) ex. coprologique +
600 (99,2%) ex. coprologique —

or, sur 605 examens coprologiques négatifs, il y avait :

211 (34,8%) autres protozoaires

159 (26,2%) autres amibes qu'E. H.

En 1933, CRAIG faisant le point de ses expériences portant sur un millier d'individus, conclut que les réactions deviennent négatives durant la période de bonne santé, entre deux rechutes. Elles redeviennent positives quand les symptômes morbides réapparaissent; parfois même, la positivité de la réaction précède de quelques jours l'apparition des signes cliniques. Pour l'auteur, à la fin d'un traitement actif, la réaction de fixation du complément devient négative au bout d'un laps de temps assez variable, cette période de négativation survenant généralement de 3 à 28 jours après la fin du traitement.

Il déclare en outre que cette réaction est également intéressante dans l'amibiase hépatique et qu'elle est négative pour les amibes autres qu'Entamoeba histolytica. Par conséquent, ces réactions peuvent présenter un réel intérêt pratique.

Quelques temps auparavant, en 1932, KIEFFER avait publié ses résultats portant du 22 malades, colitiques chroniques.

32 malades examinés :

Examen coprologique	Réaction de déviation
3 +	+ + + +
15 —	+ + + ou + + + +
4 —	+ ou + +

L'auteur considère comme nulles les réactions à 1 ou à 2 croix et il ajoute que les 4 cas ayant donné une réaction négative « n'étaient pas cliniquement différents du nombre plus grand de cas donnant finalement une réaction positive ».

Dans un autre cas, le même auteur publie les résultats suivants :

4 malades examinés :

Examen coprologique	Réaction de fixation du complément
3 —	+ + + +
1 +	+ +

Les 3 premiers malades souffraient de troubles abdominaux et d'attaques intermittentes de diarrhée; des examens coprologiques répétés s'étaient toujours montrés négatifs. Inversement dans le 2^{me} cas, ce malade étant porteur d'amibes, la réaction fut simplement + + (réaction interprétée comme négative par l'auteur).

En 1937, MELENEY et FRY¹³ reprennent ces expériences avec un antigène à peu près identique à celui de CRAIG; pour ces auteurs la positivité de la réaction indique la présence d'amibes dans les tissus alors qu'une réaction négative peut être rencontrée chez des personnes présentant des amibes dans la lumière intestinale seulement. Contrairement aux leishmanioses, trypanosomiasés et au paludisme, il n'y a pas, dans l'amibiase, de modification humorales telles que la variation des globulines.

TAUNAY, COUREA et FIGUEIREDO en 1942 rapportent 96 % de résultats positifs mais n'en tirent pas de déductions pratiques. En 1945, BOE, avec un antigène aqueux, ne conclut également pas.

JOHN F. KENT signale cependant à la même époque que « ce test peut fournir une aide précieuse au laboratoire particulièrement dans les cas où l'insuccès à trouver une pathogénie spécifique empêche l'établissement d'un diagnostic définitif. »

La même année, G. RITA obtient également 92 % de résultats positif sur 63 cas d'amibiase, mais en même temps, cet auteur rapporte un fait très intéressant : cet antigène réagit avec un B. W. positif. Il s'agit là, d'un caractère restrictif très important à l'emploi de ce test chez les anciens coloniaux ayant pu contracter également la syphilis, mais aussi la lèpre, une leptospirose, une spirochétose (pian, sodoku) le paludisme, maladies qui, elles aussi, peuvent s'accompagner d'une réaction de Bordet-Wassermann positive. RITA est donc en contradiction très nette avec CRAIG et il serait très intéressant que ces faits soient à nouveau vérifiés. Il faut ajouter, cependant, que l'antigène employé par RITA est assez différent de celui de CRAIG. Il s'agit bien d'un antigène alcoolique, mais ce dernier est préparé à partir de mucus et de fragments de muqueuse intestinale et non à partir d'une culture d'amibes. Cette différence de technique peut suffire, en effet, à expliquer les divergences des résultats publiés par ces deux auteurs.

La discussion des résultats des diverses méthodes d'examen relatives précédemment n'entre pas dans le cadre de notre travail. Nous ne parlerons pas, par conséquent, des réactions de floculation et de gélification, leurs propres auteurs ayant conclu, soit à leur négativité, soit à leur manque de valeur, la question n'ayant pas été suffisamment étudiée. Il n'en est pas de même de la réaction de fixation du complément. Des résultats publiés, nous pouvons conclure, malgré la difficulté de la technique employée et ses nombreuses causes d'erreur, malgré le manque de spécificité de cette réaction, malgré l'impureté des antigènes employés, à la formation et à la présence d'anticorps, tout au moins passagers dans le sérum de samibiens. Il semble donc que l'infestation ambiennne provoque une réaction de défense de l'organisme; toutefois, la divergence des opinions, comme du reste le nombre de résultats discordants ou négatifs dans les meilleures statistiques, soulignent l'insuffisance de cette méthode qui n'est pas entrée dans la pratique courante.

CHAPITRE III

L'INTRADERMO REACTION DANS L'AMIBIASE

L'intra dermo-réaction dans la dysenterie amibienne a été étudiée par quelques auteurs, mais leurs résultats, plus ou moins contradictoires, nous ont poussé à reprendre leurs expériences.

Dès 1923 SCALAS, en Italie, pratiqua cette réaction. A cette époque, on ne possédait pas encore de cultures d'*Entamoeba histolytica* et, comme ses prédécesseurs dans l'étude de la réaction de fixation du complément, il prépare un antigène à partir de mucosités, de glaires et de petits fragments de muqueuse prélevés dans le rectum d'un amibien.

Il obtient ainsi son antigène : 30 grammes de mucus et de petits morceaux de muqueuse intestinale d'une récente émission de matières sont additionnées à 50 cc. de solution physiologique; le tout est mis dans un récipient, fermé à l'émeri, avec de nombreuses petites perles de verre. Il place ce récipient à 37° pendant une semaine en ayant soin de l'agiter plusieurs fois dans la journée. Il filtre alors à travers un papier filtre et ensuite à travers une bougie de Berkefeld réunie à une pompe à vide. Le filtrat, très limpide, est décoloré par le charbon animal et soumis à une stérilisation discontinue dans un récipient stérile. L'antigène est prêt alors pour la réaction dont la technique ne diffère en rien de celle employée pour la réaction de Casoni.

Après désinfection de la peau, l'auteur injecte 1/4 de cc. dans le derme, au 1/3 supérieur de la face antérieure de l'avant-bras. Comme témoin, il injecte une égale quantité de solution de Cl Na à 0,85 % Il faut observer d'heure en heure, le comportement de la réaction.

Avec cet antigène, les essais furent faits sur les sujets sains, sur des sujets atteints de maladies diverses, sur des malades présentant des amibes dans leurs selles et enfin sur des malades atteints d'entérocélite banale. La réaction positive se caractérise au bout d'une heure par une grosse papule reposant sur une zone de couleur rose de 5 à 6 cm. de diamètre. Au point d'injection le malade signale une sensation de prurit et de chaleur. La réaction s'efface au bout de 1 à 3 jours. Dans les cas de dysenterie amibienne chronique, la réaction serait plus fugace.

SCALAS conclut alors : des résultats des essais, il est possible d'affirmer que dans la dysenterie amibienne, avec un antigène actif, l'intra dermo réaction a un caractère spécifique. A l'appui de cette conclusion, l'auteur donne les résultats de son expérimentation :

9 malades atteints de dysenterie amibienne aiguë ou chronique	1 R +
dont une réaction positive avant la découverte de Kystes.	
5 sujets sains	5 1 R —
7 malades atteints d'enterocolite banale	7 1 R —
11 malades atteints d'affections les plus diverses	11 1 R —

A la suite de la publication de ces résultats, l'auteur conclut à l'intérêt de l'intra-dermo réaction dans les formes chroniques et plus encore dans les formes larvées.

Malgré les affirmations de SCALAS, nous considérons ces conclusions comme très sujettes à caution. Possédant en effet un antigène de très mauvaise qualité, ce dernier obtient des résultats spectaculaires. Dans ces conditions, il nous est difficile de leur accorder une grande valeur. Par la suite d'ailleurs, les travaux de deux autres auteurs viennent confirmer notre opinion.

TRIPOLI, en 1929, et SPECTOR, en 1936, reprirent la question et c'est à H. BONNIN et COURDURIER, de Bordeaux, que nous empruntons leurs conclusions.

TRIPOLI utilisa des extraits glycinés de cultures d'amibes. Cet extrait glyciné stérile est injecté au sujet malade par voie intra-dermique à la dose de 0,2 cc. La positivité du test se manifeste par une inflammation et par une rougeur de 1 cm. de diamètre. Ce test, pratiqué par la suite sur des malades atteints de maladies diverses, sur des malades soupçonnées d'amibiase, mais sans preuves coprologiques, donne des réponses inconstantes qui ne permettent pas à l'auteur de conclure.

SPECTOR, quelques années plus tard, reprend cette méthode. Il constate des réactions nettement positives dans les cas d'helminthiase avec les antigènes amibiens et ne peut, par le fait même, conclure à la spécificité d'une telle réaction.

A l'inverse des résultats de SCALAS, ceux, publiés par ces deux derniers auteurs, ne nous surprennent pas outre mesure; ils sont, en effet, en concordance avec ceux obtenus avec les autres intra-dermo-réactions pratiquées en clinique telles les réactions de Casoni et les réactions aux extraits de douve. Ces réactions sont en effet positives, très souvent dans les cas d'helminthiase et semblent trahies par conséquent une « réaction de groupe ». Ici aussi il semble que l'on se trouve en présence d'une réaction du même ordre.

La discordance des résultats obtenus d'une part, la perfection de plus en plus poussée des cultures d'amibes d'autre part, nous ont engagé à reprendre ces expériences en utilisant un meilleur antigène, à spécificité amibienne plus grande. Or, cette expérimentation exige :

1. — La culture d'amibes
2. — La préparation de l'antigène
3. — L'expérimentation elle-même.
4. — L'interprétation des résultats

Ceci constituera l'objet des chapitres suivants.

CHAPITRE IV

LA CULTURE DES AMIBES

1. — HISTORIQUE

Sans reprendre ici l'historique de la culture des amibes, entreprise dès 1856 par AUBERBACK et poursuivie par la suite par de nombreux auteurs, nous rappellerons quelques-uns des travaux qui, depuis 1924, date à laquelle fut obtenue pour la première fois la culture d'*Entamoeba dysenteriae* par BOECK et DRBOLAAW, ont permis de perfectionner ces méthodes de culture.

Ce sont ces deux auteurs qui, un an après avoir obtenu pour la première fois une culture d'amibes dysentériques, énoncèrent les principes fondamentaux de cette méthode. Voici leurs conclusions :

1. — Emploi d'un milieu mi-solide, mi-liquide, stérilisé et possédant un Ph de départ de 7,2 à 7,8.

2. — Chauffage du tube de culture à 37° avant l'ensemencement.

3. — Ensemencement avec des fèces contenant des formes actives d'*Entamoeba histolytica*, celles-ci étant déposées avec une pipette au fond du tube de culture, à la limite de séparation du liquide et du solide.

4. — Repiquage tous les 2 ou 3 jours, les amibes disparaissant du milieu au bout de 5 à 6 jours.

Le milieu employé par BOECK et DRBOLAHW consiste en un support solide constitué par le milieu de DORSET (solution de Ringer, œuf, liquide ovo-mucoïde). Cette phase solide forme un plan incliné. La phase liquide n'est autre que le liquide ovo-mucoïde de BOECK (un blanc d'œuf recueilli aseptiquement + un litre de solution de Ringer stérilisée).

Malgré toutes les modifications ultérieures, les principes énoncés par BOECK et DRBOLAHW à cette époque gardent tout leur actualité.

Nous notons cependant que, après les travaux de Deschiens en 1929, l'adjonction au milieu de culture d'amidon de riz et de poudre d'œuf ou de poisson a permis de maintenir en équilibre le Ph des cultures pendant plus longtemps. Ceci permet, entr'autre, des repiquages plus espacés et atteignant parfois une dizaine de jours.

De même, de nombreuses modifications ont été apportées à la constitution du milieu de culture lui-même. Ainsi la gélose, la gélose au sang, la gélose au sang chauffé, ont été employées successivement

comme constituants de la phase solide. La phase liquide elle-même a subi de nombreuses transformations; le liquide ovomucoïde de BOECK a été remplacé après les travaux de DOPTER et DESCHIENS en 1935 par le sérum de cobaye, le sérum de cheval et parfois même le sérum humain.

Dès 1924, LAIDLAW montre l'action favorisante de l'amidon de riz sur le développement des amibes; en 1932, BRUMPI, et quelques mois plus tard DOBELL et LAIDLAW l'utilisent dans leurs milieux de culture. Nous avons parlé précédemment de l'incorporation à ce même milieu de poudre de riz et de poudre de poisson par DESCHIENS. L'embryon de poulet a également été utilisé.

Nous ne ferons que citer en passant les nombreux travaux de DOPTER, DESCHIENS, REES et bien d'autres auteurs sur la biologie de l'amibe et sur son métabolisme. Tous ces travaux ont eu pour but de préciser le rôle des différents facteurs (Ph — potentiel d'oxydo-réduction, rôle des bactéries, systèmes enzymatiques) susceptibles de favoriser la culture d'*Entamoeba histolytica*.

Un fait très important doit être souligné; c'est l'absence de cultures bactériologiquement pures. En effet, dans l'état actuel de nos connaissances, la symbiose amibe-bactéries est indispensable en culture : il est remarquable de constater avec quelle rapidité les amibes disparaissent du milieu de culture lorsque l'on supprime la flore bactérienne par l'adjonction d'antibiotiques associés (pénicilline - streptomycine — sulfamides). Les auteurs américains sont parvenus cependant à réduire cette flore à une seule espèce bactérienne (organisme *Streptobacillus leinactivus* par la pénicilline - *Trypanosoma cruzi*). De même, L. LAMY, dans le laboratoire du Professeur DESCHIENS à l'Institut Pasteur de Paris a obtenu temporairement une culture bactériologiquement pure, grâce aux antibiotiques.

Il est évident que ces nombreux travaux ont abouti à une grande multiplication des milieux de culture, différant les uns des autres par un ou plusieurs de leurs constituants.

II. — CHOIX D'UN MILIEU DE CULTURE

Voulant vérifier les résultats obtenus par SCALAS, TRIPOLI et SPECTOR, nous nous sommes laissés guider dans le choix de notre milieu de culture par de nombreuses considérations.

1. — La flore bactérienne.

Nous nous sommes efforcés de la réduire au minimum par adjonction d'antibiotiques au milieu lui-même. De plus, au cours de la préparation même de l'antigène, nous avons essayé de l'éliminer le plus possible par des centrifugations et des lavages répétés du culot. Nous n'avons pas cru utile d'employer les cultures associées à une seule espèce bactérienne; cette méthode peut-être à l'origine de nombreuses recherches sur la biologie d'*Entamoeba histolytica*. Malgré cela, elle nous a paru ici d'un intérêt plutôt secondaire, les réactions de l'organisme humain vis à vis de cette flore bactérienne étant encore trop incomplètement connues. Quant aux cultures bactériologiquement

pures, elles sont d'un maniement trop délicat pour pouvoir être utilisées en pratique.

2. — *Produits organiques incorporés aux cultures*

Désirant éliminer au maximum toutes les substances organiques susceptibles de provoquer des réactions de l'organisme humain, nous avons délaissé dans la constitution de notre milieu de culture le jaune d'œuf, la poudre de poisson, les extraits d'organe et l'embryon de poulet.

Notre choix s'est porté finalement sur le milieu N, un des milieux employés actuellement à l'Institut Pasteur de Paris. La grande simplicité de ce milieu et les bons résultats qu'il procure nous ont décidé à l'adopter.

III. — MILIEU DE CULTURE EMPLOYE

La composition de ce milieu est longuement exposée dans la thèse de Lamy, thèse à laquelle nous nous sommes rapportés. Comme de très nombreux milieux à l'heure actuelle, il est constitué d'une phase solide et d'une phase liquide.

A. — ELEMENTS DU MILIEU DE CULTURE

a — phase solide

1. — *Sérum de cheval coagulé*

On prend du serum stérile de cheval qu'on répartit en tubes de 17 à la dose de 2 à 3 cc. par tube. Ces tubes, fermés par un tampon de coton, sont portés à la température de 80° pendant environ 20 minutes. Les tubes ayant été légèrement inclinés, la surface du serum coagulé forme avec le fond du tube un angle dièdre; on obtient ainsi un milieu solide de teinte blanc ivoire. Un serum coagulé à point doit laisser sourdre à sa surface de petites gouttelettes pendant son refroidissement. Les tubes ainsi préparés sont conservés à la glacière, ceci afin d'éviter une trop grande dissécaton.

2. — *Aliment figure, l'amidon de riz,*

Comme nous l'avons dit plus haut, le rôle favorisant de l'amidon de riz a été mis en évidence, d'abord par LAIDLAW en 1924, et ensuite par BRUMPT et DOPTER. Cette amidon de riz est réparti dans de petits tubes, fermés au coton et capuchonnés avec du papier fin, à raison de 1 gramme par tube, ces tubes sont stérilisés par chauffage au four à 140-160 degrés pendant 1 heures, et ceci, 3 jours consécutifs. Les germes et les spores se trouvant dans l'amidon sont détruits grâce à cette méthode.

b. — phase liquide

1. — *Solution de Ringer*

Nous préparons une solution de Ringer ayant la composition suivante :

Na Cl 60 gr.
K Cl 1 gr.
Ca Cl₂ 1 gr.
eau distillée 1.000 cc.

Cette solution, diluée au 1/10, est ensuite filtrée sur papier et stérilisée à l'autoclave à 120 degrés. Son Ph, qui doit être voisin de 7,3, est vérifié au préalable. On répartit ensuite cette solution de Ringer dans des Erlenmeyer à raison de 95 cc. par flacon.

2. — Bicarbonate de Soude

Pour éviter la formation de sels insolubles au moment de la stérilisation du Ringer à l'autoclave, le bicarbonate de Soude est préparé séparément en petites ampoules de 5 cc. contenant 0,01 de bicarbonate. Ces ampoules sont autoclavées à 120 degrés; elles sont ensuite ajoutées directement à l'Erlenmeyer au moment de la constitution définitive du milieu.

3. — Serum de cheval liquide

Il faut également disposer d'une certaine quantité de serum de cheval liquide. Ce serum est filtré et sa stérilité est ensuite vérifiée par passage à l'étuve à 48 degrés pendant 48 heures.

B. — CONSTITUTION DEFINITIVE DU MILIEU

Ces opérations terminées, nous sommes en possession de tous les éléments composant le milieu de culture. A ce moment là, nous prenons un Erlenmeyer dans lequel nous mettons :

Solution de Ringer à 10 % 95 cc.
Bicarbonale de Na 0,1 (1 ampoule)
Serum liquide de cheval 15 cc. (= 1/6)
Amidon de riz 1 gr.

Le tout est alors bien homogénéisé; il est bon alors de vérifier à nouveau la stérilité du milieu par passage à l'étuve à 37 degrés pendant 48 heures. 48 heures également avant l'emploi du milieu, on répartit le contenu de l'Erlenmeyer dans les tubes contenant le serum coagulé, à raison de 8 cc. par tube. On place alors ces tubes à l'étuve à 37 degrés. En agissant ainsi, on dispose :

1. — D'un milieu récent.
2. — D'un milieu chauffé à 37 degrés, température nécessaire pour l'ensemencement ou le repiquage des amibes.
3. — D'un milieu stérile et vérifié avant l'emploi. En effet, un trouble de la phase liquide ou une atteinte quelconque du serum coagulé doit nous faire considérer le milieu comme souillé.

Si tous les tubes de culture ne sont pas employés immédiatement, on peut les conserver à la glacière, en capuchonnant les tubes pour éviter une évaporation trop importante.

IV. — ENSEMENCEMENT DU MILIEU DE CULTURE

Nous pratiquons l'ensemencement suivant le procédé classique à l'aide d'une pipette, en partant des selles glairo sanguinolentes prélevées chez un rapatrié d'Extrême Orient en période de dysenterie aiguë. Les amibes ainsi ensemencées ont conservé toute leur virulence. Nous avons ainsi employé une souche récente de préférence à celle entretenue depuis environ 4 ans à l'Institut Pasteur sur un milieu de culture identique. En effet, comme l'a montré DESCHIENS, les amibes perdent généralement leur virulence par repiquages successifs.

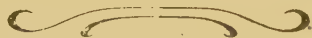
Ces faits sont prouvés par les expériences réalisées par DESCHIENS sur de jeunes chats; il a montré que le pourcentage de dysenteries aiguë graves, provoquées par inoculation du chaton, était beaucoup moins élevé avec des amibes de culture qu'avec des amibes fraîchement émises dans les selles. Le prélèvement doit être déposé au contact de l'amidon de riz et du serum coagulé, dans l'angle dièdre formé par la phase solide et la paroi du tube.

Les amides ainsi obtenues se sont développées sans aucune difficulté; nous avons repiqué nos cultures tous les jours, pendant environ une semaine. De cette façon, nous avons éliminé une partie de la flore bactérienne toujours très abondante au début. Par la suite, nous avons ajouté quelques gouttes de Pénicilline (3 gouttes d'une solution de pénicilline contenant environ 2.500 U.O. par goutte) et de Streptomycine aux milieux de culture, la flore associée ayant tendance à se développer d'une façon exagérée. Au bout d'une semaine environ nous n'avons effectué des repiquages que tous les 4 jours.

Tous les repiquages doivent être précédés d'un examen microscopique du prélèvement qui doit servir à l'ensemencement et ceci afin de s'assurer de la présence d'amibes. Il arrive parfois qu'à l'examen on ne retrouve que peu ou même pas du tout d'amibes. Ce fait tient généralement à une faute de technique, soit que le prélèvement soit trop superficiel et ne contienne que des bactéries, soit qu'il soit trop profond et ne contienne que de l'amidon de riz.

Il va sans dire que toutes ces manipulations doivent être pratiquées aussi stérilement que possible; flambage du tube de culture à l'ouverture et à la fermeture, emploi de pipettes Pasteur, stériles et flambées. Il faut s'assurer cependant que les pipettes ne soient pas trop chaudes, les amibes pouvant alors être altérées au moment du prélèvement.

Par des repiquages successifs, un seul tube servant à ensemencer 5 à 6 tubes environ, nous avons pu multiplier nos cultures en quantité suffisante pour préparer un antigène.



CHAPITRE V

LES ANTIGENES

I. — HISTORIQUE

Les auteurs ayant étudié les différentes méthodes de diagnostic biologique de l'amibiase se sont tous heurtés au problème des antigènes.

D'abord aqueux, ces extraits ont été, par la suite, et particulièrement avec CRAIG, alcooliques. Quelques auteurs ont employé également des extraits glycinés et des extraits lipoidiques. De même, obtenus depuis 1925 à partir de cultures d'*Entamoeba dysenteriae*, ces antigènes étaient auparavant préparés directement à partir des selles des malades.

Dès 1911, SELLARDS et ensuite en 1914 IZAR, emploient des antigènes aqueux obtenus à partir du mucus et de petits morceaux de muqueuse intestinale contenus dans les selles fraîchement émises d'amibiens en période de crise aiguë.

Nous avons parlé précédemment, à propos de l'intra-dermo réaction, de l'antigène employé dès 1922 par SCALAS. Son procédé ne diffère guère de celui de ses prédécesseurs et on le comprend très bien, l'étude de l'amibe dysentérique n'ayant fait que très peu de progrès au cours de cette période.

Tout différent est l'antigène employé dès 1926-1927 par CRAIG. Cet auteur emploie dans les réactions de déviation du complément un extrait alcoolique préparé à partir de cultures d'*Entamoeba dysenteriae*. Pour cela, il prend le culot de centrifugation de 60 tubes de cultures de 48 heures; il additionne ce sédiment de 10 volumes d'alcool absolu. Cette solution, gardée à l'étuve à 37 degrés pendant 10 jours, est ensuite filtrée. L'auteur emploie ce filtrat comme antigène et déclare qu'il possède des propriétés cytolytiques et hémolytiques révélées uniquement dans l'alcool absolu et non dans l'eau salée. Ce sont ces substances qui, par CRAIG, expliquent l'action locale d'*Entamoeba histolytica* sur la muqueuse intestinale ? Comme témoin, CRAIG emploie un extrait microbien préparé selon la même technique.

En 1932, SHERWOOD et HEATHMAN emploient un antigène lipoidique tandis qu'en 1929 TRIPOLI avait employé un extrait glyciné obtenu en ajoutant au sédiment d'une culture un égal volume de glycérine. Les résultats obtenus avec cet extrait ne permirent pas à l'auteur de conclure.

TAUNAY, CORREA et FIGUEIREDO en 1942 emploient également un extrait alcoolique tandis qu'en 1945, BOE emploie un antigène préparé suivant la technique de CRAIG, mais avec de l'eau physiologique et non de l'alcool absolu. Il aboutit à des résultats analogues. Cet auteur se trouve donc en légère contradiction avec CRAIG, car ce dernier déclare que les propriétés hémolytiques et cytolytiques des extraits de culture d'amibes se révèlent uniquement dans l'eau absolue et non dans l'eau salée.

Quelques années plus tard, en 1947, RITA emploie un antigène alcoolique préparé différemment. Il s'agit d'un antigène obtenu à partir de sang et de mucus d'un cas de dysenterie amibienne aiguë. Ce sang et ce mucus sont repris par 7 volumes d'alcool, filtrés et gardés ensuite à 45 degrés pendant 15 jours. Avec cet antigène, l'auteur observe 92 % de réponses positives, mais gros inconvénient, cet antigène réagit avec une réaction de Bordet-Wassermann positive.

II. — PREPARATION DES ANTIGENES

Pratiquement nous avons employé dans notre expérimentation deux sortes d'antigènes, tous deux aqueux, le premier préparé avec de l'eau distillée, le deuxième avec de l'eau physiologique. Nous avons également expérimenté un troisième antigène, obtenu à partir du milieu de culture lui-même. Nous en parlerons rapidement ici, bien que les résultats obtenus ne puissent pas être retenus.

EXTRAIT N° 1

Nous avons préparé nos extraits à partir de cultures d'amibes. Considérant que le liquide surnageant contient surtout la flore bactérienne tandis que les amibes se développent principalement au niveau de la phase solide du milieu (serum coagulé, amidon de riz) nous éliminons le plus possible la phase liquide. Pour cela :

1. — avec une boule de Miquel, nous prélevons la partie supérieure des tubes de culture, laissant au fond de ceux-ci, l'amidon de riz plus une légère quantité de liquide.

2. — nous prélevons ensuite le fond des différents tubes de culture, amidon compris. Ce prélèvement contient donc l'amidon de riz, de nombreuses amibes et également une partie assez importante de germes bactériens. Ce liquide, placé dans des tubes stériles de centrifugeuse, est centrifugé pendant environ 1 minute à 1.800 tours minute. Nous évitons une centrifugation trop rapide afin d'éviter le plus possible l'éclatement des corps amibiens. Le culot de centrifugation comprend principalement l'amidon de riz, les amibes et également quelques germes; ces derniers, de masse beaucoup plus faible, sont moins projetés dans le culot sous l'effet de la force centrifuge. Nous rejettons le liquide surnageant, le remplaçons par de l'eau physiologique à 37° et centrifugeons à nouveau à 1.800 tours minute. Nous renouvelons plusieurs fois cette opération, tentant de laver ainsi au maximum notre sédiment.

3. — Finalement, nous reprenons ce culot, le desséchons au préalable à l'étuve à 37° pendant 48 heures et le broyons finement dans un mortier.

4. — L'extrait amibien définitif est obtenu par reprise de l'extrait sec avec de l'eau distillée dans les proportions suivantes : 0,01 d'extrait sec pour 1 cc. d'eau distillée. Nous conservons ce liquide 24 heures à l'étuve à 37°; après filtration sur bougies L3 nous le conservons à la glacière jusqu'à l'emploi.

La culture que nous avons employée à cette occasion n'avait été additionnée à aucun moment de Pénicilline ou de Streptomycine. Nous n'avons pas préparé à cette occasion d'antigène microbien. Cet extrait a été employé en intra-dermo-réactions, 3 jours après sa préparation. D'autres essais ont été pratiqués par la suite et à des dates différentes. Les résultats se trouvent consignés dans les tableaux des pages suivantes : ils seront interprétés par la suite. Plusieurs antigènes ayant été employés nous désignerons cet extrait sous le nom de Antigène I.

ANTIGENE N° 2

Cet antigène a été préparé suivant une technique sensiblement comparable à la précédente. Comme dans l'antigène N° 1 nous avons eu 4 phases.

1. — élimination du liquide surnageant.

2. — reprise du sédiment de culture, centrifugation et lavages successifs.

3. — dissécation du culot de centrifugation.

4. — reprise de l'extrait sec par l'eau physiologique et conservation à l'étuve à 37° pendant 4 jours, filtration ensuite et conservation à la glacière.

Cet extrait diffère cependant du précédent par les faits suivants :

1. — la reprise de l'extrait sec a été faite par de l'eau physiologique et non plus avec de l'eau distillée.

2. — l'extrait sec repris par l'eau physiologique a été conservé plus longtemps à l'étuve (4 jours au lieu de 24 heures).

3. — Enfin, la culture d'amibes a été additionnée de temps à autre de petites quantités de Pénicilline et de Streptomycine. Ces antibiotiques ont été employés, particulièrement avant le dernier repiquage, afin d'éliminer au maximum les germes associés.

En même temps que cet antigène N° 2, nous avons employé un témoin préparé à partir de la flore bactérienne contenue dans les tubes de culture. Pour obtenir ces germes sans trop de modifications, nous avons ajouté auparavant à un tube de culture d'amibes 0,02 de chlorhydrate d'émétine ce qui a entraîné une disparition rapide de toutes les amibes. Par des repiquages successifs, nous avons développé cette culture bactérienne. Ces mêmes repiquages ont eu également pour résultat de rendre négligeable, par des dilutions répétées, la quantité d'émétine (0,02) employée à l'origine. Nous avons même, comme pour la culture amibienne, ajouté quelques gouttes de Pénicilline et de Streptomycine à ce milieu avant le dernier repiquage.

La préparation définitive de l'extrait ne diffère en rien de celle

de l'antigène amibien N° 2 y compris l'opération de centrifugation lavage. Nous nous sommes efforcés en effet d'obtenir plus un témoin microbien qu'un vrai antigène. Nous voulons en effet éviter autant que possible les erreurs d'interprétation occasionnées par la réaction due aux germes présents dans l'antigène amibien qui n'est en fait rien d'autre qu'un antigène mixte amibe-bactéries. Pour cela, nous nous sommes efforcés de réaliser un équivalent de la concentration bactérienne contenue dans l'antigène amibien N° 2.

ANTIGENE N° 3

Enfin, nous basant sur la possibilité d'une diffusion de substances amibiennes dans le milieu même de culture, nous avons réalisé un 3^{me} antigène. Dans les expériences réalisées avec cet extrait, nous avons employé également un témoin microbien et un 2^{me} témoin constitué uniquement par le milieu de culture.

a — *Antigène amibien*

Nous reprenons notre culture, âgée à ce moment là de 1 mois et demi environ. Dès le départ, nous nous proposons :

1) d'employer comme antigène la phase liquide du milieu de culture.

2) de faire éclater au préalable les amibes afin de libérer leurs protéines.

Pour accomplir ce 2^{me} point, nous avons rencontré de nombreuses difficultés et nous nous sommes rendus compte alors de la résistance des amibes, même sous leur forme végétative, aux différents traitements physiques.

Malgré l'adjonction au liquide de culture d'une quantité égale d'eau distillée, malgré des centrifugations répétées à 4.600 tours minute et ensuite à 6.400 tours minute, nous rencontrions chaque fois, de nombreuses amibes intactes et mobiles aux différents examens microscopiques pratiqués. Au bout de 3 jours et vu la persistance d'amibes toujours vivantes, nous avons mis les tubes à la glacière à + 5°. Le lendemain, ne trouvant plus d'amibes, nous filtrons sur bougie L3 et gardons ce filtrat à l'étuve à 37° pendant 3 jours. Ainsi par évaporation, nous avons pu augmenter la concentration de cet antigène. Nous l'avons conservé par la suite à la glacière.

b. — *Témoin microbien*

Ce témoin est obtenu à partir des cultures bactériennes précédemment isolées. Nous faisons subir à cette culture le même sort qu'à la culture amibienne, sauf évidemment la centrifugation, sans intérêt ici. Nous avons pour ce témoin respecté les délais de passage à l'étuve et à la glacière. Cet extrait, ainsi obtenu, n'est pratiquement rien d'autre qu'un filtrat pluri microbien.

c. — *Témoin culture*

Ce dernier témoin est obtenu par filtration de la phase liquide du milieu de culture, l'amidon de riz y ayant séjourné un certain temps. Il consiste donc dans un mélange : solution de Ringer, serum liquide de cheval.

III — CONSIDERATIONS SUR LES ANTIGENES UTILISES

Nos antigènes ont tous été préparés à partir de cultures d'*Entamoeba histolytica* ayant environ 4 jours de culture.

Nous avons éliminé les extraits alcooliques malgré les résultats encourageants obtenus dans les réactions de diviation du complément par de nombreux auteurs et particulièrement par CRAIG. Nous nous sommes basés pour cela sur le fait que BOE, en 1945, a obtenu des résultats analogues en employant un antigène aqueux.

Avec ces différents antigènes, nous pratiquons des intra dermo-réactions sur plusieurs individus. D'emblée et même avant de publier et d'interpréter les résultats obtenus nous tenons à faire quelques réserves au sujet de ces divers extraits, ces derniers en effet ne sont pas d'une stricte pureté et cela tient au fait que, même à l'heure actuelle, il n'est pas possible d'obtenir des cultures « bactériologiquement pures ».

Nous allons faire en premier lieu, parce que c'est celle qui nous retiendra le plus longtemps, la critique des extraits employés sous le titre d'antigène 3. Nous citons en même temps et très rapidement les résultats obtenus dans cette série car nous n'avons pas cru utile de les reproduire dans les tableaux. Pratiquée chez 16 malades, l'injection intra-dermique de cet antigène n'a donné aucune réaction intéressante.

Parmi les 16 malades, se trouvaient 7 amibiens et 9 malades hospitalisés pour des affections diverses. Les intra dermo-réactions furent pratiquées chez chaque sujet, 1^o avec l'antigène amibien; 2^o avec le témoin microbien; 3^o avec le milieu de culture lui-même, ce dernier ayant été filtré au préalable.

Nous avons constaté alors que le milieu de culture lui-même donne assez souvent une réaction légèrement positive. Ceci ne saurait nous surprendre si nous nous reportons aux travaux de DAVIS sur les réactions cutanées aux injections de serum de cheval. Cet auteur a montré que 30 % des individus, normaux, réagissent à une injection de 0,1 cc. de serum. Vu de ce seul fait, le pourcentage élevé de fausses réactions susceptibles d'être obtenues, nous rejetons définitivement cet antigène.

Pour éliminer ces fausses réactions dues au serum de cheval, nous aurions pu évidemment employer du serum humain. Ce dernier, outre l'avantage comme l'a montré DESCHIENS de favoriser la culture des amibes, nous aurait permis d'éliminer ces réactions cutanées.

Malgré cela, cet antigène n'aurait pas été exempt de toute critique; nous constatons également que les réactions obtenues avec l'antigène amibien et avec l'antigène bactérien sont à peu près identiques. Cela peut d'ailleurs s'expliquer assez facilement dans le cas particulier. Comme nous l'avons signalé précédemment au sujet de la préparation de l'antigène, nous n'avons pas éliminé ici la flore bactérienne par des centrifugations et des lavages successifs. Nous avons donc employé ici un antigène mixte amibe-bactérie dans le vrai sens du mot.

Ces deux faits, présence en grande quantité de serum de cheval et non élimination des germes bactériens dans la préparation de l'antigène, suffisent donc à fausser tous nos résultats dès le départ.

Dans la préparation des antigènes amibiens 1 et 2 nous nous sommes efforcés d'éliminer au maximum ces deux causes d'erreur par la méthode des lavages successifs. Nous pensons y être parvenus d'une façon relativement satisfaisante pour le serum de cheval. La deuxième cause d'erreur par contre était beaucoup plus difficile à supprimer. Les lavages, mêmes très répétés, sont insuffisants d'une part ; d'autre part dans une culture, avec une flore bactérienne ou même avec une seule espèce bactérienne, les amibes phagocytent les germes si bien qu'à un certain moment ces derniers, ou tout au moins leurs constituants font partie de l'amibe elle-même. A ce stade, aucun moyen physique ne permet de les dissocier. Nous reviendrons plus tard sur cette question à l'occasion de l'interprétation des résultats.



CHAPITRE VI

EXPERIMENTATION



I – TABLEAUX RECAPITULATIFS
DES RESULTATS OBTENUS

II – INTERPRETATION DES RESULTATS OBTENUS

Extrait du 28 Février 1951 — Intra-dermo-réaction le 3 Mars 1951

Malade	Diagnostic clinique	Ex. de selles	6 h.	24 h.	48 h.
1. — Tor... A.	Amibiase (Juin 49) Paludisme (51)	— (4)	+	+	+
2. — Dav... T.	Paludisme - bilieuse - amibiase (41-42) Ascaris - Triphocephales.	—	+	+	+
3. — Hau... R.	Amibiase (42-43) Hepatite (?) 1950 - Paludisme (45)	— (7)	—	—	—
4. — Bou... L.	Amibiase (49-50-51) ulcérations rectales - triphocephales	+	+	+	+
5. — Lar...	Amibiase (48-49) Hépatite (51) - Strongles.	—	+	+	+
6. — Rou... R.	Thyphoïde (48) hépatite amibienne (51) (traitement d'épreuve).	—	+	+	+
7. — W... M.	Dysenterie amibienne (1949-50-51) ulcérations rectales.	+	+	+	+
8. — Ezz... L.	Ascariodiose (26-1-51)	—	—	—	—
9. — Cor... L.	Ascaris (Triphocephales)	—	—	—	—
10. — Mar... J.	Paludisme - Giardia - Triphocephales (après enrichissement).	—	+	+	+

Extrait du 28 Février 1951 — Intra-dermo-réaction le 7 Mars 1951

Malade	Diagnostic clinique	Ex. de selles	6 h.	24 h.	48 h.
11. — Bra... J..	Amibiase aiguë récidivante (1946) ulcérations rectales (1951)	—	+	+ —	—
12. — Coq... M.	Troubles dyspeptiques	—	+ —	+ —	—
13. — Gau... A.	Mauvais état général	—	—	—	—
14. — Hou... S.	Cholecystite chronique	—	—	—	—
15. — Abd... A.	Asthénie amaigrissante	—	+ —	—	—
16. — Lab... J.	Syndrome diarrhéique Appendicite chronique ?	—	+ —	—	—
17. — Pet... R.	Manifestations articulaires douloureuses (goutte ?)	—	+ —	—	—
18. — Pra... B.	Dystonie vésiculaire.	—	+ —	+ —	—
19. — Rab... R.	Paludisme - Dolichomégasigmoïde.	—	—	+ —	—
20. — Tis... R.	Syndrome vésiculaire fruste	—	+	+ —	—

Extrait du 28 Février 1951 — Intra-dermo-réaction le 14 Mars 1951

Malade	Diagnostic clinique	Ex. de Selles (1)	6 h.	24 h.	30 h.	48 h.
21. — Le N... P.	Amibiase (1947) ins. hépatique.	—	+	+	+	—
22. — Lar... G.	Dysenterie amibienne (48) Hépatite amibienne (51)	+	+	+	+	+
23. — Bra... J.	Amibiase aiguë récidivante (1946)	—	—	+	+	—
24. — Bou... L.	Amibiase 49-50-51 - ulcérations triphocephales	+	+	+	+	+
25. — Mol... A.	Amibiase chronique	—	+	+	+	+
26. — Blu... M.	Amibiase ancienne (?) jamais confirmée	—	+	+	—	—
27. — Hau... P.	Amibiase 42-43 - Hépatite 1950 (?)	— (7)	+	+	—	—
28. — Hen... M.	Paludisme bilieux — Amibiase (41-43) Ascasis (50)	—	+	+	+	+
1. — Les signes + ou — ne traduisent que la présence ou l'absence de kystes ou d'amibes dysentériques. Les autres parasites intestinaux sont signalés dans le diagnostic clinique.						
29. — Hen... M	Colite chronique	—	+	+	+	+
30. — Mer... .	Diabète	—	—	—	—	—
31. — Les... .	Aplasie médullaire	—	—	—	—	—

32. — Mon.. L.			+	+	+	+	—
33. — Aum...			—	—	+	—	—
34. — Del.. M.			+	+	+	—	—
35. — Jam.. E	Ulcus duodenal		+	+	—	—	—
36. — Clo... J.	Ulcus du bulbe		+	+	—	—	—
37. — Bai... M.	Syndrome vésiculaire		—	+	—	—	—
38. — Ler... B.	Syndrome douloureux F. I. D.	— (6)	+	+	+	+	+
39. — Cha... M.	Amibien (1917) entérite chronique	—	+	+	—	—	—
40. — Bar... J.	Toeniasis	—	+	+	+	—	—
41. — Vin...	Obésité	—	—	—	—	—	—
41 b. — Mor... P.	Colite	E	+	+	+	+	+
	Hartmannii						

Extrait du 5 Mai 1951 — Injection le 7 Mai 1951

Malade	Diagnostic clinique	Ex. de selles	6 h.	24 h.	30 h.	48 h.
42. — Jar... H.	Paludisme (51) Coli-Lambliia Sequelles hépatite amibienne	—	A + M +	+ + +	+ +	— —
43. — Len... J.	Amibiase (47-49) a. Biermer (48) Paludisme (48) Tripho-coli (1951)	?	+ + + +	+ + +	+ + —	— —
44. — Hen... J.	Amibiase intestitale (48) nombreuses rechutes - ictère catarrhal - infiltrat du sommet.	—	+ + +	+ + +	—	— —
45. — Gil... M. C.	Paludisme (1941) Amibiase (1949-1951)	+	+	+ +	+ +	—
46. — Gou... C.	Paludisme (1947) Amibiase intestinale (48-49) Hépatite (1950) Rechute de dysenterie amibienne (51)	+	+ +	+ —	— —	— —
47. — Dav... P.	Paludisme - Hépatite amibienne (1951) Infiltrat sous-claviculaire gauche	—	+ + +	+ + +	+ + —	— —
48. — Del... M.	Amibiase (1950) - troubles colitiques importants (1951)	—	+ + +	+ + +	—	—
49. — Emm... G.	Amibiase 1940 - Biliieuse 44 ins. Hépatique - Syndrome digestif douloureux (1951)	—	+ + +	+ + +	+ + —	— —
50. — Pou... G.	Amibiase intestinale (1947-1948-49-51)	+	+ +	— —	— —	— —

51. — Lat.. P.	Dysenterie amibienne 1950 Hépatite (1950-1951)	—	+ +	+ +	+ +	+ +	— —
52. — Pai.. R.	Enterite (1950) ankylestomiasie bienne 51. Hépatite ami-	+	+ + —	+ +	+ +		
53. — Dec.. A.	Amibiase (1925) rechutes ulcère (?) 1951.	—	+ +	+ +	+ +	+ +	— —
54. — Ben.. E.	Dysenterie bacillaire amibienne actuellement enerocolite résiduelle.	—	+ +	+ +	+ +	+ +	— +

II — INTERPRETATION DES RESULTATS OBTENUS

Dans la première partie de ce chapitre, nous parlerons uniquement des résultats obtenus avec l'antigène I.

Avec cet extrait, nous avons pratiqué trois séries d'expériences. La première série en date du 3 Mars 1951 porte sur un lot de 10 malades. Nous injectons à chacun d'eux 0,1 cc. d'extrait, à la face externe du bras. Parmi les 10 malades se trouvent :

7 amibiens traités	
2 pour hépatite amibienne	2 I R +
2 pour rechute de dysenterie amibienne avec ex. de selles. +	2 I R +
3 pour affections diverses (paludismes, ins. hépatique, etc.) amibiens anciens (41-42-49)	2 I R + 1 IR -
3 non amibiens traités	
1 pour ascaridiose	1 R —
1 pour ascaris + triphocephales	1 R —
1 pour giardia-trichocephales paludisme	1 R + +

Nous signalons ici que les 2 malades atteints d'hépatite présentent une réaction nettement plus positive que ceux atteints de rechute de dysenterie amibienne. De même, les réactions de ces deux derniers sont également plus positives que celle des deux anciens amibiens.

Parmi les non amibiens, les malades 8 et 9 ont présenté une réaction nettement négative. Par contre, le malade 10, rapatrié d'Indochine, paludéen, porteur de triphocéphales et de giardia a réagi très fortement (réaction + + +). Chez ce malade, il n'a pas été mis en évidence d'amibes ou de kystes d'amibes dans les selles, mêmes après enrichissement. Il ne semble pas que les ascaris ou les triphocephales soient responsables du résultat vu les réactions négatives présentées par les deux malades précédents.

Le paludisme peut-il être incriminé ? Il ne le semble pas également ; dans la même série en effet le malade 3 et dans la série suivante, le malade 19 sont paludéens et présentent une réaction négative.

Il ne nous reste plus qu'à rendre les giardia responsables de cette fausse réaction, à moins que nous n'assistions un jour, pour une raison quelconque, au réveil d'une amibiase latente et jusque là méconnue.

Le 7 Février 1951, nous reprenons nos essais sur une nouvelle série de 10 malades comprenant :

1 amibien ancien (1946) avec nombreuses ulcérations rectales, mais sans amibes ou kystes d'amibes dans les selles. La réaction pré-

sentée par ce malade est considérée par nous comme négative.

9 malades atteints d'affections diverses. A signaler parmi eux, le malade 16 (syndrome diarrhéique banal) donnant une intra-dermo réaction négative.

— Le malade 19, paludéen — I. R. négative. Parmi tous les autres; nous ne relevons que des réactions ou franchement négatives ou très légèrement positive (+) et considérées par nous comme négatives.

Enfin, le 14 Mars 1951 nous reprenons avec ce même antigène l'une dernière expérimentation portant sur 22 malades comprenant :

— 8 amibiens confirmés anciens ou en période de rechute.

— 13 sujets traités pour d'autres raisons.

— 1 sujet présentant E. Hartmani dans ses selles. Parmi les amibiens nous notons les N° 22 — 23 — 24 — 27 — 28 qui correspondent respectivement aux N° 5 — 11 — 4 — 3 — 2 de la série du 3 Mars 1951. Il est à signaler que les résultats sont identiques malgré le traitement entrepris. Des trois autres amibiens les N° 21 et 25 présentent une réaction positive. Le N° 26 par contre, chez qui le diagnostic d'amibiase n'a jamais été confirmé, est porteur d'une intra-dermo réaction franchement négative. A signaler également le N° 41 bis présentant Entamoeba hartmani dans ses selles et porteur d'une réaction positive.

Les deux malades (29 — 38) à réaction très fortement positive, sont deux colitiques chroniques rebelles à toute thérapeutique. Les sujets 32 et 34, par contre, à réaction positive, ne sont pas hospitalisés et ne signalent aucun trouble.

Chez les non-amibiens, nous avons donc :

2 I.R. + + ou + + +.

2 I.R. +

9 I.R. —

41 bis I.R. +

Tableau récapitulatif des résultats obtenus dans cette série :

Amibiens 16	I.R. + 11	I.R. — 5
Non Amibiens 25	5	20
E. Hartmani	1	
Amibiens évolutifs 5	I.R. + 5	I.R. — 0
Amibiens anciens 11	6	5

Ces deux petits tableaux résument bien tous les résultats et nous permettent de conclure ainsi :

1. — les amibiens en évolution présentent une I.R. positive.

2. — Parmi les anciens amibiens, la moitié environ présentent une I.R. négative.

3. — Enfin, parmi les non amibiens, 1 sujet sur 5 environ présente une I.R. positive.

4. — Cette dernière conclusion en particulier doit suffire à nous faire éliminer d'emblée cette méthode de diagnostic dans l'amibiase, même si nous trouvons par la suite une réaction positive chez tous les amibiens.

En reprenant nos tableaux et en revoyant en particulier les

résultats obtenus chez les malades non porteur d'amibes, nous remarquons que parmi ceux-ci, outre les 5 malades présentant une réaction franchement positive, un sur deux environ est porteur d'une intradermo réaction +. Rapprochant cela du fait que notre antigène amibien est en réalité un antigène mixte amibe-bactéries, rien ne s'oppose à ce que nous considérions ces réactions, douteuses et classées négatives par nous, comme dues à une sensibilisation aux bactéries présentes dans la lumière intestinale.

En effet, la fausse réaction obtenue chez des sujets apparemment sains s'opposant aux réactions très franchement positives rencontrées chez de grands colitiques chroniques (29-38-10) semblent confirmer cette hypothèse, la positivité des résultats variant, soit avec l'abondance, soit avec la qualité de cette flore intestinale. Nous pensons de ce fait que, même chez les amibiens, les réactions positives obtenues peuvent être provoquées par une sensibilisation bactérienne et non plus amibienne. Certains sujets présentent des amibiases bénignes, tandis que d'autres sont atteints de formes particulièrement graves. Nous supposons que cela s'explique plus par les modifications subies par la muqueuse intestinale sous l'influence des germes associés que par la virulence propre des souches amibiennes.

Nous faisons ici une simple supposition et, en réalité, il semble bien qu'aucune des nombreuses théories énoncées jusqu'à présent, n'explique parfaitement et complètement ces différences de gravité.

Les travaux de DESCHIEN ont d'ailleurs montré comment une culture amibienne ayant perdu sa virulence par repiquages successifs la retrouve par addition de germes et peut dès lors provoquer, par inoculation, une dysenterie amibienne grave chez le jeune chat.

Les bons résultats obtenus d'autre part par l'utilisation actuelle des antibiotiques dans l'amibiase confirment ces données. BLANC et SIGUIER apportent un intérêt aussi grand au traitement antibactérien (Pénicilline - Streptomycine, Ganidan) qu'au traitement anti-amibien proprement dit (émétine).

Ces constatations nous ont conduit à comparer chez les mêmes individus les résultats obtenus avec l'antigène amibien d'une part, avec le témoin microbien d'autre part.

Le 5 Mai 1951, nous pratiquons donc chez 13 sujets une intradermo-réaction aux deux extraits, une sur chaque bras. Comme précédemment, nous notons les résultats à la 6^{me}, 24^{me}, 30 et 48^{me} heure. Sur ces 13 malades, nous avons :

12 amibiens

1 malade présentant une entérocolite à la suite d'une dysenterie bacillaire ancienne actuellement guérie.

Chez tous ces malades, nous obtenons une réaction positive aux 2 antigènes même chez le N° 54 atteint d'entérocolite. Chez ce dernier, ainsi que chez le 48, amibien ancien mais présentant actuellement des troubles colitiques très importants, il semble que la réaction au témoin microbien soit la plus importante.

Chez tous les autres malades, les réactions obtenues avec l'antigène amibien sont :

1. — ou équivalentes à celles obtenues avec l'antigène microbien (50 - 52 - 53)

2. — ou légèrement plus intenses (42 - 43 - 44 - 46 - 47 - 49 - 50)

Chez le 45, il n'a pas été pratiqué d'injection témoin. Le témoin méicrobien donne donc une réaction sensiblement équivalente à celle de l'antigène amibien.

Ceux qui connaissent la difficulté de lecture et d'interprétation d'une intra-dermo réaction seront d'accord avec nous pour admettre combien dans cette dernière expérimentation, il était parfois difficile de juger du degré de positivité d'une réaction par rapport à une autre. Certaines petites erreurs sur le degré d'intensité de quelques réactions ont pu être commises. Cela en pratique a peu d'intérêt; le fait essentiel est le suivant : chez les mêmes malades, avec l'antigène amibien, nous avons obtenu des réactions identiques à celles présentées au témoin bactérien.



CONCLUSION

1. — L'intradermo réaction, dans l'amibiase, présenterait un intérêt considérable tant au point de vue diagnostic qu'au point de vue épidémiologique, si ses résultats étaient probants.

2. — L'étude des intra-dermo réactions, pratiquées avec différents antigènes, permet :

a — d'exclure l'antigène obtenu à partir du milieu de culture lui-même, cet antigène donnant des réactions trop vives et non spécifiques.

b — de ne retenir que l'antigène obtenu à partir de l'extrait sec, le serum de cheval du milieu de culture et une partie seulement de la flore associée étant éliminés par cette méthode. Aucun antigène n'est actuellement à l'abri de critiques quand à sa pureté.

c — de mettre en évidence des intra-dermo réactions positives dès la 6^{me} heure chez les amibiens. Cette réaction persiste 48 heures à 3 jours.

3. — L'interprétation de ces réactions en fonction des données cliniques et d'une contre partie expérimentale obtenue avec des extraits de culture, privée d'amibes et contenant seulement la flor bactérienne associée révèle :

a — qu'il existe, chez de très nombreux individus, même non amibiens, une sensibilisation bactérienne mise en évidence par l'intra-dermo réaction à l'extrait bactérien.

b — que de ce fait, la positivité des intra-dermo réactions obtenue chez les amibiens à partir de l'antigène préparé avec les cultures d'amibes, ne peut pas être interprétée comme la traduction d'une réaction spécifique, mais plutôt comme la traduction d'une réaction de sensibilisation complexe, peut-être amibienne, mais sûrement bactérienne.

4. — Jusqu'au jour où l'on pourra obtenir des cultures bactériologiquement pures, les seules méthodes de diagnostic de l'amibiase resteront les méthodes parasitologiques.

Vu :
Le Président de Thèse :
signé : LAVIER.

Vu :
Le Doyen :
Signé : BINET

Vu et Permis d'Imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris :
signé : JEAN SARRAILH.

BIBLIOGRAPHIE

- BAUMEL — L'amibiase intestinale — Etude clinique rectoscopique et radiologique.
Gaz. heb. de France 57-16 p. 735 Août 1950.
- BERNE. — Diagnosis and treatment of amebic liver abscess.
Surg. Gynec. and Obst.
75 - 235 - 238 Août 1942.
- BLANC - SIGUIER. — Le traitement d'entretien de l'amibiase intestinale.
Gaz Med. de France 57 - 12 p. 81 Août 1950.
L'amibiase : étude clinique et thérapeutique.
- BOE. — Complement fixation antigen in *Entamoeba histolytica* infection.
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.
60 - p. 31 — 33 Octobre 1945.
- BONNIN - COURDURIER. — La culture d'*Entamoeba histolytica* et ses applications cliniques.
Maroc Médical 168 - p. 323 Juin 1936.
— Culture of *E. dys.* and its clinical application
Gaz Med. de France.
43 - 673 - 679 - Septembre 1-15; 1936.
- CHENE. — La rectoscopie dans les recto-colites.
Maroc Médical 167 - p. 228 Mai 1936.
- CHIRAY - CHENE. — Formes frustes de l'amibiase hépatique
Gaz. Med. de France.
57 - 16 - 771 Août 1950.
- COUMEL - MOLINIER - RESCANIERES. — Manifestations gastro-duodénales de l'amibiase.
Arch. mal. App. Digestif p. 613 1948 (Sept. Oct.)
- CRAIG. — Observations upon the hemolytic, cytolytic and complement binding properties of extracts of *E. histolytica*.
Amer. JI. of trop. Med. 7 - p. 39 1927.
— Complement fixation in the diagnosis of infections with *E. H.*
Amer. JI. of trop. Med. 8 p. 29 - 36 Janvier 1928.
— The technique and results of a complement fixation test for the diagnosis of infections with *E. H.*
Amer. JI. of trop. Med.
9 - 5 p. 277 - 296 Sept. 1929.
— The diagnostic value of the complement fixation test in Amoebic infections.

Jl. Amer Medical Association.

95 I p. 10 - 13 Juillet 1930.

— Further observation upon the complement fixation tests in the diagnosis of amoebiasis. An analysis of the results of the tests in thousand individuals.

Jl. Labor and clinical med.

18. 9. p. 873 - 881 - Juin 1933.

— Observations upon complement fixation in experimental amoebiasis in dogs.

Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.

30 p. 270 - Déc. 1932.

CRAIG - KAGY. — Complément fixation test in Amoebiasis

Amer. Jl. of hygien.

18.1 p. 202 - 209 Juillet 1933.

DESCHIENS R. — Les difficultés diagnostiques dans les colites amibiennes chroniques

Maroc Medical 168 - p. 320 Juin 1936.

— Modifications du pouvoir pathogène de l'amibe dysentérique en culture.

Maroc Medical 168 p. 353 Juin 1936.

— Rôle de la flore mactérienne associée à l'amibe dysentérique dans l'amibiase.

Annales de l'Institut Pasteur - 61 p. 528 Juillet 1938.

— Le rôle des bactéries dans l'amibiase intestinale

Paris Medical 23 - p. 486-491 Juillet 1938.

DESCHIENS R. — La biologie de l'amibe dysentérique dans ses relations avec l'amibiase.

Gaz Med. de France 57 - 16 p. 829 - Août 1950.

DAVIS H. — Horse serum skin test.

J. Hygien - 38 - p. 325 - 1938.

FABIANI - DENDALE — Réaction de gélification du serum sanguin au cours de l'amibiase.

Bull. Ste Path. Exotique p. 556 1935.

GARIN - COUDERT — Culture et différenciation de l'amibe dysentérique

Gaz Méd. de France 57-16 p. 825 Août 1950.

GILLOT - DENDALE — Etude clinique de l'amibiase infantile.

Maroc Medical 166 - p. 198 - Avri] 1936.

HILL K.B. — Laboratory diagnosis of intestinal amoebiasis.

Lancet 1 - 903 - 906 - Juin 1947.

HILLEMANT ET CATTAN. — L'amibiase en France - Etude Clinique et thérapeutique.

Gaz Med. de France 57 - 16 p. 747 Août 1950.

KENT J. F. — The serodiagnosis of amoebiasis.

The bulletin of U. S. Army Med. department.

7 é 7 p. 647 - 648 Juillet 1947.

KERSHAW. — The diagnosis of Amoebiasis.

B. Medical J. p. 305 - 307 Mars 1946.

- LAMY L. — Le problème de la culture des amibes parasites.
C. R. Soc. Biol. 142 p. 633 - 634 - 1948.
— Contribution à l'étude de la culture des amibes parasites — Réalisation d'une culture bactériologiquement pure.
Thèse de Doctorat ès-Sciences - Paris, 1949.
- LEBON - FABREGOULE - CHOSSAT et CLAUDE. — Les formes non dysentériques de l'amibiase intestinale.
Gaz. Méd. de France 57 - 16 p. 749 Août 1950.
- LUCAS R. B. — Culture methods in the diagnosis of Amoebiasis
J. Roy Army Med Corps.
85 p. 249 - 251 Nov. 1945
- KIEFFER — The Craig complement fixation test for Amoebiasis in chronic ulcerative colitis.
Amer. JI of the med. science.
183 - 5 - p. 624 - 641 Mai 1932.
- MATHIS. — Considérations générales sur l'amibiase .
Gaz. Méd. de France.
7 - 16 p. 731 - Août 1950.
- MELENEY - FRYE. — Practical value and significance of complement fixation reaction.
Am. JI of Hygien.
15 p. 785 - 808 - Mais 1952.
- MOLINIER - BENSANDE - TABUSSE. — L'amibiase en France.
Revue Méd. France 28 - 91 - 93 - Juin 1947.
- MOLINIER - BENSANDE — La rectoscopie dans l'amibiase.
Arch. de l'app. digestif 1949 et Société de Médecine Militaire 1948
- MOLINIER - BENSANDE - TABUSSE. — Les lésions rectales et la rectoscopie dans l'amibiase.
Gaz. méd. de France.
57 - 16 - p. 795 - Août 1950
- MORGAN. — Amoebiasis some difficulties of diagnosis-British Med. JI.
2 p. 721 - 722 - Déc. 2 - 1944.
- MOULAERT. — Le diagnostic de l'amibiase chronique.
Maroc Médical 167 - p. 256 - Mais 1936.
- MOUTIER — Amibiase et cancer du colon.
Gaz. Méd. de France 57 - 16 - p. 791 - Août 1950.
- PACHECO — Sur l'allergie cutanée produite par des filtrats de culture de colibacille.
C. R. Soc. Biol. 128 - p. 220 - 1938.
- PAYE — Amibiase hépatique Etude clinique.
Gaz. Méd. de France - 57 - 16 - p. 763 - Août 1950.
- REES C. W. — Le métabolisme d'Entamoeba histolytica et ses relations avec les problèmes de l'amibiase chronique.
Gaz. Méd. de France 57 - 16 - p. 835 Août 1950.

- RIOU - ARQUIE. — Les manifestations extra intestinales de l'amibiase.
Gaz. Méd. de France 57 - 16 p. 801 - Août 1950
- RITA. — Contributo allo studio della serodiagnosi nell' amebiasi (Sero-diagnosis of Amoebiasis).
Riv. de Parassit. 1947 - Juin-Septembre.
vol. 8 - N° 2 - 3 p. 113 118.
English summary.
- SAWITZ - HAMMERSTROM. — The statistical significance of a négative stool examination in the diagnosis of amobiasis.
Am. J. Hyg. 38 - p. 1-7 Juillet 1943
- SCALAS — L'intradermo réactione nella dissenterica amebica.
La reforma medica p. 967 - 1923.
- SIMARRO — Applicationes clinicas de la allergia, concepto réactiones cutaneas, valor semeiologica.
Rev. Med. Barcel.
20 - 53 - p. 155 - 1933
- SPEDER. — Importance de l'examen radiologique pour le dépistage et l'étude de l'amibiase.
Maroc Médical - 169 - p. 419 Juillet 1936
Maroc Médical - 169 - p. 453 Août 1936.
— Le diagnostic de l'amibiase du colon par les signes cliniques et de laboratoire.
Maroc Médical 170 - p. 464 Août 1936.
- SPRENT. — Sur les phénomènes toxiques et allergiques provoqués par les tissus et les sérosités d'ascaris.
The Journal of infections diseases (Chicago) p. 146-158.
- TAUNAY - SORREA G. DE FIGUEIREDO. — A reacao de fixacao de complemento no diagnostico da amibiase.
Rev. Inst. Ad. Lutz.
2 p. 34 - 41 - Mai 1942.

